

REV PORT PNEUMOL IX (4): 337-352

ARTIGO ORIGINAL/ORIGINAL ARTICLE

Perfil epidemiológico das infecções bacterianas do aparelho respiratório em doentes com fibrose quística

Epidemiological survey of bacteria isolated from the respiratory tract of cystic fibrosis patients

SOFIA QUINTAS¹, LUÍSA PEREIRA², LUÍS LITO³, CELESTE BARRETO⁴

RESUMO

Com o intuito de caracterizar a evolução do perfil epidemiológico das infecções bacterianas do aparelho respiratório dos doentes com Fibrose Quística (FQ), os autores realizaram um estudo retrospectivo da prevalência e incidência das

ABSTRACT

With the aim of characterizing the evolution of the epidemiological profile of respiratory bacterial infections of patients having Cystic Fibrosis (CF), the authors conducted a retrospective analysis about its incidence and prevalence in

¹ Interna do Internato Complementar

² Assistente hospitalar

Centro Especializado de Fibrose Quística (Coordenadora: Dra Celeste Barreto)

Unidade de Pneumologia (Coordenador: Prof. J. Costa Trindade)

Clínica Universitária de Pediatria (Director: Prof. J Gomes-Pedro)

³ Chefe de Serviço

Laboratório de Bacteriologia (Directora: Dra Maria José Salgado)

⁴ Assistente graduada

Hospital de Santa Maria, Av. Prof Egas Moniz, Lisboa

Recebido para publicação/Received for publication: 03.07.22

Aceite para publicação/Accepted for publication: 03.08.20

mesmas em 78 doentes com FQ seguidos no Centro Especializado de FQ da Clínica Universitária de Pediatria do Hospital de Santa Maria, Lisboa durante um período de 5 anos (1995-1999).

A *Pseudomonas aeruginosa* foi a bactéria mais frequentemente isolada nos três primeiros anos do estudo (60-73%), sendo ultrapassada nos dois anos seguintes pelo *Staphylococcus aureus*. No entanto, a *Pseudomonas aeruginosa* constituiu sempre o principal agente de colonização crónica (44-59%), com um pico de início da mesma entre os 0 e os 5 anos (34%). Verificou-se ao longo dos 5 anos um aumento significativo da prevalência de colonização intermitente e crónica por *Staphylococcus aureus* (48% para 83% e 32% para 54%). A prevalência de isolamentos de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e de *Burkholderia cepacia* quase que duplicou neste período. As taxas de isolamento e de colonização crónica por *Alcaligenes xylosoxidans* aumentaram bruscamente a partir de 1997 (de 3% e 0% em 1996 para 7% e 5% em 1997 e 10% e 7% em 1999). A colonização crónica por *Haemophilus influenzae* manteve uma prevalência média de 22%, apesar dum aumento dos isolamentos (de 42% para 61%). Em 55% dos doentes observou-se colonização crónica por dois ou mais agentes.

Em função destes resultados são discutidos os esquemas terapêuticos e as medidas de prevenção de contágios que têm sido preconizados nos doentes com FQ do nosso centro.

REV PORT PNEUMOL 2003; IX (4): 337-352

Palavras-chave: Fibrose Quística, bactérias, colonização crónica, pulmão

78 CF patients followed at the CF Specialized Centre, Paediatric Department, Santa Maria Hospital, Lisbon, during a 5 years period (1995-1999).

Pseudomonas aeruginosa was the most frequently isolated bacteria during the first three years of the study (60-73%), being surpassed by *Staphylococcus aureus*. However, *Pseudomonas aeruginosa* always remained the principal agent of chronic colonization (44-59%), with a peak of beginning between 0 and 5 years (34%). A significative increase of the prevalence of intermitent and chronic colonization with *Staphylococcus aureus* was verified during this five years (48% to 83% and 32% to 54%). The prevalence of isolations of Meticillin Resistant *Staphylococcus aureus* and of *Burkholderia cepacia* almost duplicated during this period. The taxes of isolation and chronic colonization with *Alcaligenes xylosoxidans* raised sharply beyond 1997 (from 3% and 0% in 1996 to 7% and 5% in 1997 and 10% and 7% in 1999). Chronic colonization with *Haemophilus influenzae* kept a median prevalence of 22%, in spite of an increase in isolations (from 42% to 61%). Fifty five per cent of the patients were chronically colonized by two or more agents.

In view of these results, the authors discuss the therapeutic schemes and the measures to limit cross-infection which have been being advocated for CF patients in our centre.

REV PORT PNEUMOL 2003; IX (4): 337-352

Kry-words: Cystic Fibrosis, bacteria, chronic colonization, lung

INTRODUÇÃO

A Fibrose Quística (FQ) é uma das mais comuns doenças genéticas letais na população caucasiana, estimando-se que afecte 1 em cada 2000 a 4000 nados-vivos^{1,2}. É uma doença autossómica recessiva, devida a uma mutação do

gene codificante de uma proteína designada por CFTR (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), com funções de canal de cloreto a nível da membrana apical das células epiteliais. Embora se trate de uma doença multissistémica, são os aparelhos respiratório e gastrointestinal os mais afectados. A nível pulmonar, o processo

patológico caracteriza-se por um ciclo vicioso de infecção-inflamação crónica e obstrução das vias aéreas, que conduz a insuficiência respiratória e, em última análise, à morte. Com efeito, mais de 85% dos doentes com FQ morrem devido ao agravamento progressivo da sua doença pulmonar³. As infecções do aparelho respiratório são as principais responsáveis pelo processo de destruição broncopulmonar característico desta doença, de tal forma que a instalação da colonização crónica por *Pseudomonas aeruginosa* constitui habitualmente um ponto de viragem na evolução da mesma^{4,5}.

A implementação de medidas terapêuticas agressivas visando prevenir e/ou tratar o mais precoce e eficazmente possível a infecção/colonização bacteriana conduziu, por um lado, a um aumento da sobrevivência destes doentes, mas, por outro, ao isolamento de um número crescente de agentes bacterianos pouco usuais e/ou resistentes a múltiplos antibióticos. Para este facto contribuiu também o aperfeiçoamento das técnicas laboratoriais de isolamento bacteriológico. Em consequência destes factores, o perfil epidemiológico das infecções bacterianas do aparelho respiratório dos doentes com FQ tem vindo a modificar-se nos últimos anos, o que obriga a questionar os esquemas terapêuticos e as medidas de prevenção de contágios preconizados.

Com o intuito de caracterizar essa evolução os autores procederam a um estudo retrospectivo da prevalência e incidência das infecções bacterianas do aparelho respiratório dos doentes com FQ seguidos no Centro Especializado de Fibrose Quística da Clínica Universitária de Pediatria do Hospital de Santa Maria, Lisboa, durante um período de 5 anos.

POPULAÇÃO E MÉTODOS

Realizou-se uma análise retrospectiva dos processos de consulta e internamento dos doentes seguidos regularmente no Centro Especializado

de Fibrose Quística da Clínica Universitária de Pediatria do Hospital de Santa Maria, Lisboa, com o diagnóstico confirmado de Fibrose Quística.

O diagnóstico de FQ foi baseado na presença de manifestações clínicas características, associadas a dois ou mais doseamentos de cloreto na Prova de Suor ≥ 60 mEq/L. Em todos os doentes foi ainda realizado estudo genético, com identificação de pelo menos uma mutação no gene CFTR em 71/78.

A consulta dos processos clínicos compreendeu a recolha de dados anamnésticos e a revisão dos resultados de todos os exames bacteriológicos referentes ao aparelho respiratório realizados a cada doente desde a data em que começaram a ser seguidos no Centro Especializado de Fibrose Quística.

Os dados da história clínica analisados foram: idade no final do período do estudo (Dezembro 1999) ou à data de falecimento (quando compreendida nos 5 anos do estudo), idade no início do seguimento no Centro Especializado de Fibrose Quística, sexo e genótipo.

Os dados bacteriológicos dizem respeito a culturas convencionais de amostras de secreções respiratórias, realizadas com uma frequência média trianual por doente. Para cada cultura foram analisadas as bactérias isoladas.

A colonização crónica (CC) foi definida como a presença persistente de determinada bactéria durante 6 ou mais meses (≥ 3 isolamentos consecutivos em 6 meses). A colonização intermitente (CI) foi definida como o isolamento em pelo menos uma amostra no ano considerado. A idade de início da colonização intermitente corresponde à idade na data do primeiro isolamento de determinado agente.

A incidência anual de colonização crónica para cada bactéria foi definida como o número de casos cuja colonização crónica se iniciou durante esse ano a dividir pela população total em risco (número de doentes que nunca estiveram cronicamente colonizados por essa bactéria).

O tempo de evolução da colonização intermitente para crónica corresponde em cada caso ao período que decorreu entre o primeiro isolamento de determinada bactéria e o cumprimento dos critérios de colonização crónica pela mesma. Quando um agente foi isolado de forma repetida durante 6 ou mais meses desde a sua identificação pela primeira vez em determinado doente, foi atribuído a este tempo de evolução o valor zero. Quando, após um isolamento inicial, não se tenha verificado a instalação de um estado de colonização crónica até à data de conclusão da análise (Dezembro 1999) ou de falecimento do doente em questão o tempo médio de evolução da colonização intermitente para crónica correspondeu ao tempo que mediou entre os dois acontecimentos.

RESULTADOS

Foram seleccionados 78 doentes, 48 (62%) do sexo feminino e 30 (38%) do sexo masculino. O número de doentes seguido regularmente no Centro Especializado de FQ variou ao longo dos anos analisados: 50 em 1995, 50 em 1996, 55 em 1997, 66 em 1998 e 69 em 1999. A idade média no final do estudo, ou à data do falecimento, foi de 16 anos (8 meses a 39 anos e 11 meses), sendo que a maioria dos doentes tinha 18 anos ou menos.

O seguimento no Centro Especializado de FQ teve início antes dos 5 anos em 42% dos casos (Fig. 1).

A mutação F508del foi identificada em 80,7% dos alelos, com 40% de doentes homozigóticos para esta mutação. Em 7/78 dos doentes não foi identificada nenhuma mutação. Das restantes mutações encontradas, as mais frequentes foram a R1066C, a R334W (4 doentes cada), a A561E e a G85E (3 doentes cada). As mutações N1303K, 3272-26A-G/N, G542X, 1609DelCA e 1898+1G>T foram identificadas em dois doentes cada e as 875+1G>A, 621+1G>T, Y1092X, 711+1G>T, I1234V, Q637X e G576A em um doente cada.

Isolamentos bacterianos

A prevalência de colonização intermitente por *Staphylococcus aureus* (STAU) aumentou de forma progressiva e muito significativa desde 1995, passando de 48% nesse ano para 83% em 1999 (Fig. 2 e Quadro I). No caso da *Pseudomonas aeruginosa* (PSAE), esta taxa manteve-se mais estável: após um aumento de 13% (de 60 para 73% dos doentes) entre 1995 e 1997, em 1999 verificou-se uma redução de novo, para 67% dos doentes (Fig. 2 e Quadro I).

O terceiro agente mais frequentemente isolado

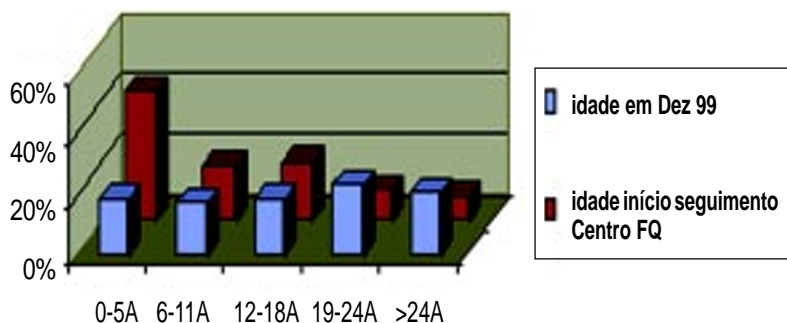


Fig. 1 — Idade no final do estudo ou à data do óbito e idade em que teve início o seguimento no Centro Especializado de Fibrose Quística

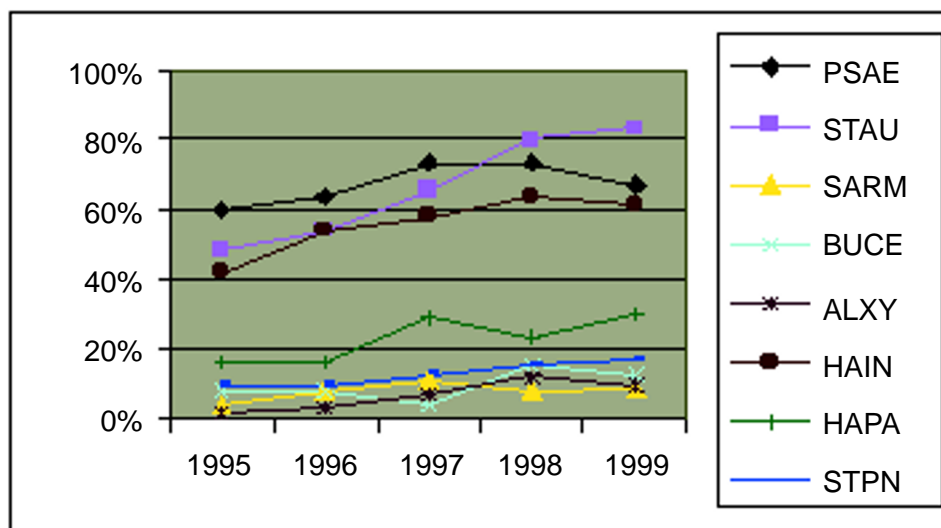


Fig. 2 — Prevalência de colonização intermitente pelos agentes bacterianos mais relevantes.

QUADRO I

Prevalência de colonização intermitente (CI), colonização crónica (CC) e incidência anual de colonização crónica (ICC) para os agentes isolados mais relevantes

	PSAE			STAU			SARM			BUCE			ALXY			HAIN		
	CI	CC	ICC	CI	CC	ICC	CI	CC	ICC	CI	CC	ICC	CI	CC	ICC	CI	CC	ICC
	%			%			%			%			%			%		
1995	60	44	13	48	32	19	4	4	2	8	4	2	2	0	0	42	20	4
1996	64	54	27	54	34	8	8	6	2	8	2	0	3	0	0	54	22	19
1997	73	58	25	65	38	14	11	5	2	4	2	4	7	5	5	58	22	11
1998	73	53	17	80	45	34	8	8	3	15	8	3	12	6	2	64	23	9
1999	67	59	30	83	54	38	9	7	3	13	7	2	10	7	2	61	22	11

PSAE-*Pseudomonas aeruginosa*, STAU-*Staphylococcus aureus*, SARM-*Staphylococcus aureus* resistente à metilina, BUCE-*Burkholderia cepacea*, ALXY-*Alcaligenes xylosoxidans*, HAIN-*Haemophilus influenzae*

foi o *Haemophilus influenzae* (HAIN), que aumentou progressivamente, encontrando-se em 61% dos doentes com culturas realizadas em 1999. De entre as bactérias menos comuns,

destaca-se o *Alcaligenes xylosoxidans* (ALXY), cuja prevalência de CI passou de 2% em 1995 para 12% em 1998 e 10% em 1999 e a *Burkholderia cepacea* (BUCE), que de 4% em

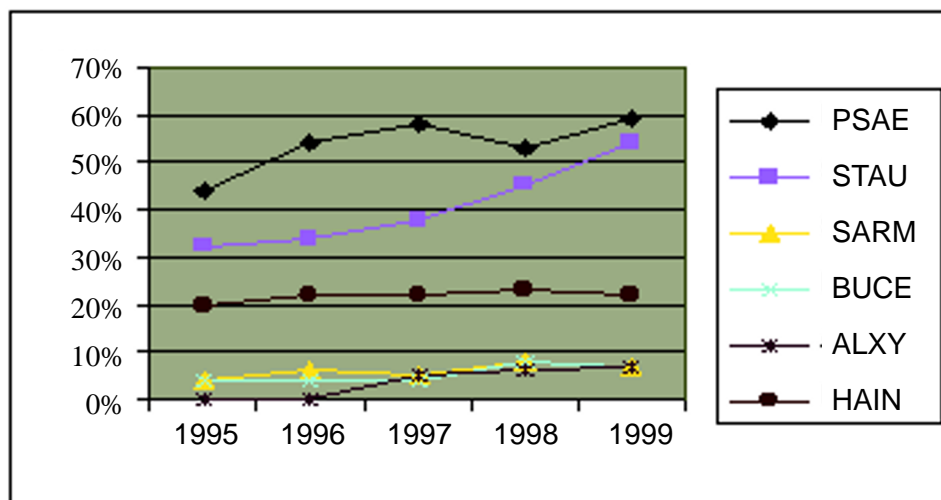


Fig. 3 — Prevalência de colonização crónica pelos agentes bacterianos mais relevantes.

1997 passou a ser isolada em 15% e 13% dos doentes em 1998 e 1999, respectivamente (Fig. 2 e Quadro I).

No que diz respeito à prevalência da colonização crónica, o agente mais frequente ao longo dos cinco anos foi a PSAE, que após um aumento de 10% da respectiva taxa entre 1995 e 1996 apresentou oscilações menos amplas, afectando, em 1999, 59% dos doentes (Fig. 3 e Quadro I). O segundo agente mais frequente como colonizador crónico das vias respiratórias destes doentes com FQ foi o STAU, tendo a prevalência dessa condição aumentado 22% entre 1995 e 1999 (de 32 para 54%). A prevalência de colonização crónica pelo *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (SARM) duplicou durante os 5 anos do estudo (4% em 1995, 8% em 1998 e 7% em 1999). Em 1999, também a BUCE e o ALXY foram repetidamente isolados em 7% dos doentes, sendo que em 1995 e 1996 nenhum doente se encontrava cronicamente colonizado pelo último.

A incidência anual de colonização crónica pela PSAE registou dois picos: em 1996 e 1997 (27 e

25%) e 1999 (30%) (Quadro I). No caso do STAU, aumentou bruscamente de 14% para 34% em 1998, passando para 38% em 1999. Os três primeiros casos de colonização crónica pelo ALXY tiveram início em 1997 (incidência de 5%) e a incidência anual de novos casos desde então até 1999 foi de 2%. A incidência anual de colonização crónica por SARM estabilizou em 3% em 1998 e 1999, enquanto no caso da BUCE se tem vindo a reduzir desde 1997 (de 4% para 2% em 1999).

Em 42% dos doentes, o primeiro isolamento de PSAE ocorreu numa idade inferior a seis anos e a colonização crónica pela mesma teve início na maioria dos casos (59%) até aos 11 anos (Quadro II). O tempo médio que mediou entre o primeiro isolamento e a instalação de um estado de colonização crónica pela PSAE foi de 2 anos e 1 mês nos doentes cujo primeiro isolamento ocorreu com 10 ou menos anos de idade e de 1 ano e 6 meses naqueles em que foi isolada pela primeira vez depois dos 10 anos (Fig. 4).

As idades de início da colonização intermitente e crónica pelo STAU e HAIN foram

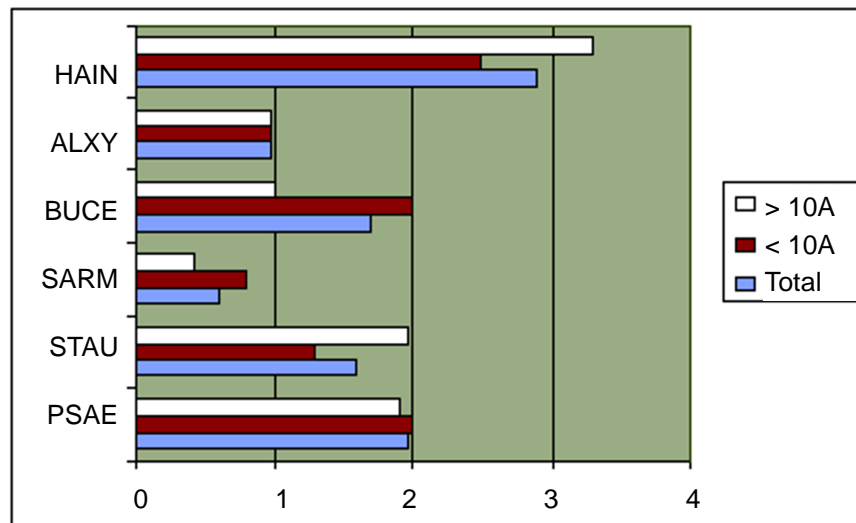


Fig. 4 — Intervalo (tempo médio) entre o primeiro isolamento e o início da colonização crónica pelos agentes bacterianos mais relevantes

QUADRO II

Idade de início da colonização intermitente (CI) e crónica (CC)

%	PSAE (n-50)		STAU (n-53)		SARM (n-7)		BUCE (n-7)		ALXY (n-5)		HAIN (n-38)	
	CI	CC	CI	CC	CI	CC	CI	CC	CI	CC	CI	CC
0-5 A	42	34	43	36	10	0	35	14	13	0	46	39
6-11 A	17	24	16	21	20	13	23	29	24	20	15	26
12-18 A	21	20	19	13	20	29	18	43	13	20	24	24
19-24 A	11	14	11	15	30	29	12	14	13	20	9	8
> 24 A	9	8	11	15	20	29	12	0	37	40	6	3
Idade média	10 ^a 4m	11 ^a 4m	10 ^a 8m	12 ^a 9m	16 ^a 11m	19 ^a 9m	11 ^a 8m	12 ^a 5m	18 ^a 9m	22 ^a 6m	9 ^a 5	9 ^a 5m

sensivelmente sobreponíveis às verificadas para a PSAE; no entanto, relativamente ao STAU, numa percentagem superior de doentes a colonização crónica teve início no grupo etário mais avançado (acima dos 24 anos – 15%) (Quadro II). O tempo médio entre o início das

colonizações intermitente e crónica pelo STAU foi de 1 ano e 3 meses (se 10 ou menos anos de idade) e de 1 ano e 10 meses (se mais de 10 anos) (Fig. 4).

Embora o primeiro isolamento de SARM tenha ocorrido em todos os grupos etários (n=10),

na larga maioria dos doentes que evoluíram para a colonização crónica por esta bactéria (6/7) esta teve início depois dos 12 anos (Quadro II). Em 5 dos 7 doentes cronicamente colonizados por SARM, o primeiro isolamento desta bactéria ocorreu em média 4 anos (6 meses a 7 anos) após o início de colonização por STAU. Nos outros dois, STAU e SARM foram isolados alternadamente desde a mesma idade. Em 2/3 dos doentes com colonização intermitente por SARM, esta teve início 3-5 anos após colonização por STAU.

Relativamente à BUCE, verificou-se um pico de incidência do primeiro isolamento: 35% antes dos 5 anos. De entre os doentes em que foi isolada BUCE, apenas 41% (7/17) evoluíram para a colonização crónica, na sua maioria (72%) entre os 6 e os 18 anos de idade (Quadro II). Em 6 deles houve um isolamento único.

No caso do ALXY, o pico de incidência de início da colonização crónica ocorreu acima dos 24 anos (40%). O tempo médio de evolução para a colonização crónica por este agente foi de 11 meses (Fig. 4).

Analisando horizontalmente a taxa de colonização crónica por idades no final do estudo, verifica-se que o grupo com maior proporção de doentes colonizados crónicos por PSAE foi o dos 19-24 anos (81%). No caso do STAU, o pico de

prevalência ocorreu para os doentes com 6-11 anos (69%). A taxa de colonização crónica pelo HAIN é superior nos grupos com idade inferior a 18 anos (29-31%). A colonização crónica por SARM só se verificou em doentes com 12 ou mais anos e pela BUCE foi mais frequente nos casos com 19-24 anos (13%). O maior número de doentes colonizados pelo ALXY situou-se no grupo etário acima dos 24 anos, não existindo em Dezembro de 1999 doentes com 0-5 anos e com 12-18 anos em que este agente tivesse sido repetidamente isolado (Quadro III).

Na mesma data, 55% dos doentes encontravam-se colonizados por dois ou mais agentes bacterianos (até 4), e apenas 12% não estavam cronicamente colonizados por nenhuma bactéria (Fig. 5). Particularmente frequente foi a co-colonização por PSAE, STAU e HAIN (51% e 15% dos doentes colonizados pela PSAE estavam-no igualmente pelo STAU e HAIN, respectivamente). Também os agentes menos comuns (SARM, BUCE e ALXY) se encontraram geralmente em situações de co-colonização com PSAE e/ou STAU (Quadro IV).

Os restantes agentes bacterianos isolados de forma menos frequente foram o *Haemophilus parainfluenzae*, o *Streptococcus pneumoniae* e outros *streptococcus*, a *Moraxella catarrhalis*, a

QUADRO III

Prevalência de colonização crónica por grupos etários (Idade em Dezembro 1999)

	PSAE	STAU	SARM	BUCE	ALXY	HAIN
0-5A	46%	46%	0	8%	0	23%
6-11 A	54%	69%	0	7%	8%	31%
12-18 A	57%	57%	7%	7%	0	29%
19-24 A	81%	56%	13%	13%	6%	6%
>24 A	54%	38%	15%	0	23%	23%

QUADRO IV

Taxas de co-colonização crónica (em Dezembro 1999)

%	PSAE	STAU	SARM	BUCE	ALXY	HAIN
PA		51	7	10	7	17
SA	57		0	8	5	30
SAMR	60	0		0	20	20
BC	80	60	0		0	40
AX	60	40	20	0		0
HI	40	67	7	13	0	

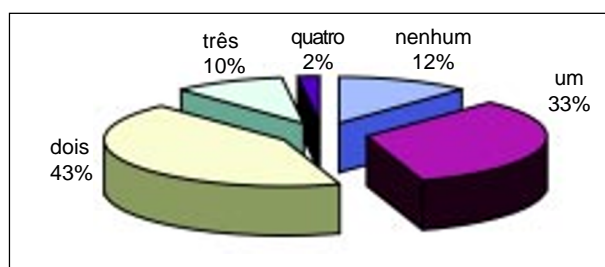


Fig. 5 — Co-colonização crónica em Dezembro 1999 (número de agentes)

Stenotrophomonas maltophilia e outros Gram-negativos (Quadro V).

DISCUSSÃO

No grupo de doentes com FQ estudado, a PSAE foi o agente bacteriano mais frequentemente isolado a partir de amostras de expectoração ou secreções brônquicas, entre 1995 e 1997,

QUADRO V

Outros agentes bacterianos isolados

	1995	1996	1997	1998	1999
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	16%	16%	29%	23%	30%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10%	10%	13%	15%	17%
Outros <i>Streptococcus</i>	0%	2%	9%	8%	6%
<i>Moraxella catarrhalis</i>	6%	4%	7%	5%	3%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0%	2%	2%	5%	1%
Outros Gram negativos	8%	8%	13%	11%	10%

sendo ultrapassada nos dois anos seguintes pelo STAU. No entanto, a PSAE constituiu sempre o principal agente de colonização crónica ao longo dos cinco anos analisados, tal como outros autores têm verificado^{3,9,23}. De realçar que a prevalência da colonização crónica pela PSAE, após um aumento de 10% entre 1995 e 1996, estabilizou entre os 54 e os 59% dos doentes, valor sensivelmente sobreponível ao verificado noutros centros⁶⁻⁸, mas até inferior ao observado no Registo Europeu de Fibrose Quística (REFQ), durante o mesmo período (68%)⁹. No entanto, quando se analisam estas taxas de prevalência em função do grupo etário e/ou a idade de início de colonização crónica pela PSAE, ressalta que uma proporção superior dos nossos doentes se encontra cronicamente colonizada por PSAE numa idade precoce, comparativamente a outros países. Com efeito, o pico de início de colonização crónica por esta bactéria ocorreu entre os 0 e os 5 anos (34%) e a taxa de prevalência desta colonização em 1999 era de 46% para os doentes com idades compreendidas entre os 0 e os 5 anos, em comparação com taxas de 13 a 38% nos EUA, Canadá e Europa^{3,4,6,9-11}. Este achado merece uma atenção particular pelas implicações prognósticas que a aquisição precoce da colonização com PSAE acarreta, nomeadamente uma deterioração da função pulmonar e uma mortalidade mais precoce^{4,11}. A taxa de colonização nos grupos etários mais avançados (>19 anos), pelo contrário, é semelhante (ou até inferior) à registada nestes países^{3,4,6,9-11}. As discrepâncias encontradas podem, no entanto, ser devidas a muitos factores difíceis de identificar, tais como o diagnóstico precoce dos casos mais graves, diferentes políticas de isolamento e de terapêutica antibiótica, o estado nutricional dos doentes e diferenças nos genótipos das populações comparadas^{10,12-15}.

A diminuição da prevalência de colonização crónica pela PSAE no grupo etário acima dos 24 anos, em relação à dos doentes com 19 a 24 anos, resulta, provavelmente, do falecimento de uma

proporção dos doentes cronicamente colonizados por PSAE antes dos 24 anos, com sobrevivência acima desta faixa etária dos doentes com formas menos graves de FQ, incluindo aquelas com uma menor taxa de infecção pela PSAE. Com efeito, tem sido demonstrado diversas vezes que, uma vez presente nas vias respiratórias dos doentes com FQ, a erradicação da PSAE é extremamente difícil, se não impossível^{4,8,16}.

No Centro de FQ de Copenhaga, o tempo médio entre o primeiro isolamento e o início da colonização crónica por PSAE passou de menos de 1 para 4 anos depois da adopção de rigorosas medidas de isolamento, a partir de 1981, e a idade de início de infecção crónica aumentou após a introdução, em 1989, de antibioticoterapia precoce e intensiva (ciclos trianuais de terapêutica antibiótica endovenosa, independentemente do estado clínico)⁸. Entre os nossos doentes, este tempo foi de 1 ano e 10 meses, o que poderá alertar para a necessidade de reforçar a profilaxia dos contactos com doentes colonizados, limitando não só o número, mas sobretudo a duração das exposições¹⁶, com vista à prevenção da infecção cruzada por PSAE. As medidas a tomar nesse sentido poderão ser estratificadas em função do genótipo CFTR, uma vez que foi demonstrada por alguns centros, incluindo o nosso, a existência de uma correlação entre diferentes tipos de mutações no gene CFTR e a idade de início da colonização crónica pela PSAE (mais precoce nos doentes homozigóticos para a mutação F508del ou mutações *nonsense* ou heterozigóticos com mutações *nonsense* e/ou F508del e mais tardia nos heterozigóticos com mutações *missense*, *splicing* e/ou F508del)¹²⁻¹⁵. O facto de o tempo médio de evolução para a colonização crónica ser superior nos doentes em que o primeiro contacto com PSAE ocorreu numa idade inferior ou igual a 10 anos (2 anos e 1 mês) poderá dever-se à realização de uma antibioticoterapia agressiva aquando do primeiro episódio de colonização/infecção por esta bactéria, o que poderá retardar

a colonização crónica pela mesma^{4,8} (uma vez que se encontra nesse grupo uma maior proporção de doentes diagnosticados mais recentemente e seguidos desde uma idade mais precoce e, como tal, alvo da nova abordagem antibacteriana realizada nos últimos anos).

No caso do STAU, é de assinalar um aumento muito significativo da prevalência de colonização intermitente e crónica ao longo dos 5 anos analisados. Com efeito, a incidência anual de colonização crónica por esta bactéria mais do que duplicou entre 1997 e 1998/99 (de 14 para 34 e 38%), fazendo com que a prevalência de doentes cronicamente colonizados passasse de um valor médio até então de 34% para 45% em 1998 e para 54% em 1999. Por outro lado, da comparação entre as prevalências de colonização intermitente e crónica resulta que uma proporção importante do aumento da primeira corresponde a isolamentos pontuais, sem evolução para a colonização crónica. Este padrão de infecção intermitente ou recorrente poderá, no entanto, ser devido à persistência da estirpe original em níveis abaixo do limiar de sensibilidade dos métodos de cultura, ou, menos frequentemente, à aquisição de novas estirpes¹⁷. Embora os dados não sejam directamente comparáveis (devido à variabilidade de critérios utilizados), estas taxas registadas nos nossos doentes são, de uma forma global, superiores às descritas por outros autores, nomeadamente às do REFQ, onde, no mesmo período, a taxa de isolamento de STAU oscilou entre os 43,7 e os 60% dos doentes e a de colonização crónica entre 27,6 e 42,6% dos doentes (consoante o grupo etário). Para este aumento poderá ter contribuído a interrupção da terapêutica profiláctica com flucloxacilina desde 1995.

Tradicionalmente, o STAU é referido na literatura como o agente colonizador inicial nas crianças com FQ, precedendo a infecção por PSAE. No entanto, e embora a taxa de colonização crónica por SA seja mais elevada nos grupos etários mais jovens (em particular nos 6-11 anos), não se

verificou um predomínio da infecção por STAU em relação à PSAE nas crianças dos 0 aos 5 anos. Também no REFQ as taxas de colonização crónica por PSAE e STAU foram sobreponíveis na faixa etária abaixo dos 6 anos, embora a prevalência de isolamentos bacterianos por STAU tenha sido superior à da PSAE nos doentes até aos 13 anos.

O facto de em 7/10 dos doentes colonizados (de forma intermitente ou crónica) por SAMR o primeiro isolamento deste agente ter tido lugar, em média, 4 anos após o início de colonização por STAU, chama a atenção para o possível papel de cursos repetidos de antibioticoterapia no aparecimento do SAMR nos doentes com FQ. Conscientes do risco de desenvolvimento de resistências antibióticas, optámos em 1995 por suspender a terapêutica antibiótica profiláctica anti-estafilocócica, tendo-se verificado entre 1996 e 1999 apenas um aumento discreto da incidência anual de colonização crónica e da taxa de colonização crónica pelo SARM. No entanto, e como já foi referido, a esta estabilização das taxas de infecção por SARM contrapôs-se um aumento muito significativo dos isolamentos e casos de colonização crónica por STAU, que ao obrigarem a administrações mais regulares de terapêutica antibiótica puderam, a médio-longo prazo, acarretar um aumento da prevalência da infecção por SARM. A decisão quanto à opção terapêutica mais adequada na prevenção e/ou tratamento da infecção das vias respiratórias por STAU nas crianças com FQ dependerá, necessariamente, da ponderação entre o impacto previsto de cada um dos fenómenos — colonização por STAU e aparecimento de SARM — na sobrevida e qualidade de vida destes doentes. Embora estejam descritas taxas de mortalidade aumentadas em doentes infectados por SARM¹⁸, a colonização por SARM nos doentes com FQ não parece determinar uma deterioração clínica significativa^{17,19}, constituindo antes um factor de estigmatização e isolamento social e em alguns centros um condicionante *major* da aceitação para transplante pulmonar¹⁷.

Além do factor antibioticoterapia, a outra medida determinante na limitação da aquisição de SARM parece ser a minimização do número de admissões hospitalares, uma vez que a transmissão nosocomial do mesmo a partir da população hospitalar geral parece ser a mais importante via de contágio, ao contrário dos contactos sociais entre doentes com FQ fora do meio hospitalar, que comportam um risco mínimo de transmissão deste agente²⁰.

Após ponderação dos diferentes argumentos, optamos actualmente por realizar sistematicamente terapêutica profiláctica com flucloxacilina durante os dois primeiros anos de vida após um primeiro isolamento de STAU nas secreções brônquicas.

No caso da BUCE, e apesar das medidas adoptadas de isolamento dos doentes colonizados, verificou-se um aumento percentual importante das taxas de colonização intermitente e crónica, em particular entre 1997 e 1999 (de 4 para 15% e de 2 para 8%, respectivamente). Este facto poderá ser atribuído à infecção por estirpes presentes em fontes ambientais, uma vez que não foi comprovada a transmissão interdoente das estirpes infectantes de BUCE estudadas por ribotipagem na nossa população de doentes durante o período deste estudo²¹. No entanto, a importância da adopção de medidas de higiene rigorosas para prevenção da infecção cruzada por estirpes de BUCE mantém-se, atendendo a que estudos realizados antes da implementação das mesmas em alguns centros mostravam taxas de infecção por BUCE superiores às verificadas por nós (no início da década de 90, com taxas de isolamento que atingiam os 39%)^{6,22}.

Um outro aspecto da infecção por esta bactéria que merece referência é o facto de, quer o primeiro isolamento quer o início da colonização crónica terem tido início numa percentagem maioritária dos doentes em idades jovens. Com efeito, em 58% dos doentes em que esta bactéria foi isolada, o primeiro episódio ocorreu até aos

11 anos de idade; em 43% dos doentes colonizados crónicos, esta teve início antes dos 12 anos e, em 1999, 8% dos doentes com FQ com menos de 6 anos estavam colonizados pela BUCE. Temos, assim, que a taxa global de infecção por BUCE em 1998 e 1999 e, em particular, a prevalência de colonização nas crianças dos 0 aos 5 anos, foram superiores às verificadas noutros países entre 1990 e 1996, como por exemplo nos EUA e no Canadá (em 3,2-4,3% das amostras estudadas e em 0,3-1% nas relativas a doentes com menos de 5 anos)^{3,11,23}, em Itália (3,8% e 0,5-0,6% até aos 5 anos)¹⁰ e na Bélgica (2,6%)²⁴. Esta taxa aproxima-se mais da encontrada na Europa entre 1994 e 1999 (6% de colonizados crónicos; 2,4% nos doentes < 6 anos) e da registada em Inglaterra (7%)^{9,17}.

O facto de em 59% dos doentes com cultura(s) positiva(s) para BUCE esta ter sido isolada de forma inconstante chama a atenção para o problema da colonização intermitente e/ou inaparente por esta bactéria. Com efeito, a identificação da BUCE a partir de culturas de secreções respiratórias pode ser difícil, o que coloca algumas dúvidas acerca da fiabilidade das mesmas na determinação do tipo de colonização respiratória²⁵. Existe alguma evidência de que a colonização pulmonar pode não ser detectada por culturas *standard* durante algum tempo (até 2 anos) após a aquisição de BUCE²⁶. Além disso, não é claro se, nos casos de colonização intermitente, uma estirpe de BUCE é substituída por outra ou se há recrudescência da estirpe inicial²⁵. Estas observações dificultam a definição das estratégias de controlo da infecção, não sendo consensual se um doente com antecedentes de culturas positivas para BUCE mas que tenham negativado entretanto deva ser alvo de medidas de isolamento em relação aos doentes não infectados. A questão da profilaxia de contactos na prevenção da infecção por BUCE é crucial, uma vez que, apesar de existir evidência de que ocorre transmissão ambiental directa e indirecta, é o contágio inter-

doente que representa a principal forma de transmissão da BUCE. A profilaxia deve assentar fundamentalmente na evicção dos contactos com doentes colonizados (limitando o contacto directo com a saliva ou “*fomites*”) e na desinfecção sistemática de todos os componentes dos sistemas de nebulização, em cujos reservatórios a BUCE cresce consistentemente^{27,28}. O recurso à caracterização molecular das estirpes infectantes de BUCE numa determinada população de doentes com FQ como forma de orientar as medidas de profilaxia dos contactos parecia teoricamente promissor. No entanto, estudos mais recentes, incluindo aquele em que foram analisados os doentes do nosso centro, vieram demonstrar que não existe uma relação constante entre o genomonovar a que pertence determinada estirpe e a gravidade da infecção associada, sendo grande a variabilidade de efeitos clínicos observados para todos os genomonovares estudados^{21,29-32}.

O aumento súbito em 1997 do número de doentes em que foi isolado o ALXY e, consequentemente, de doentes colonizados cronicamente pelo mesmo poderá ter alguma relação com as técnicas laboratoriais utilizadas. De facto, o método de cultura utilizado é determinante para o isolamento desta bactéria, podendo a sua representatividade ser subestimada se aquele não for o mais adequado. Bem demonstrativo desta consideração é o facto de a prevalência de isolamentos de ALXY assinalada no registo americano de FQ em 1995 e 1996 ser de 0,5 e 1,9%, respectivamente, ao passo que num estudo norte-americano realizado no mesmo período, mas desenhado especificamente para o isolamento desta bactéria, 8,7% dos doentes encontravam-se cronicamente colonizados pelo ALXY²³.

No entanto, este aumento numérico dos casos de isolamento de ALXY não se acompanhou de forma consistente ou linear de um agravamento clínico dos doentes infectados pelo mesmo, sendo ainda controverso qual o papel que este agente

representa na evolução da função pulmonar dos doentes com FQ^{33,34}.

No caso do HAIN, o aumento registado na prevalência da colonização intermitente ao longo dos 5 anos (de 42 para 61% dos doentes) não se traduziu num aumento proporcional da colonização crónica, a qual manteve uma prevalência média de 22%. Este achado traduz-se, de certa forma, num tempo de evolução para colonização crónica mais longo, em comparação com o observado com outros agentes. As taxas de colonização por HAIN registadas nos nossos doentes são substancialmente superiores às referidas por outros autores (média 56% vs 5,4-15% isolamentos^{3,4,10,11,25}, o que pode representar uma maior eficácia laboratorial no isolamento deste agente e não uma taxa de infecção realmente superior, uma vez que são estes mesmos autores que apontam as falhas laboratoriais como justificativo para as taxas que encontraram. Embora em outros estudos se tenha verificado uma diminuição significativa da prevalência de colonização pelo HAIN ao longo da idade⁹⁻¹¹, entre nós as taxas de colonização crónica por grupos etários são oscilantes, sem apresentar esse padrão.

Em termos globais, confirma-se o carácter tendencialmente crónico da infecção das vias respiratórias pela PSAE nos doentes com FQ, justificado fisiopatologicamente por mecanismos já identificados, em particular a existência de *pili*, que facilitam a adesão da bactéria a receptores do epitélio respiratório; à diminuição da *clearance* mucociliar (devida a alterações das propriedades hidroelectrolíticas do muco); a lesões do epitélio respiratório (por traumatismos, infecções virais ou alterações funcionais devidas à desnutrição e hipoxemia) e à secreção de um alginate mucóide que protege as bactérias dos mecanismos de defesa do hospedeiro e facilita a indução de uma reacção inflamatória persistente⁴.

Dos outros agentes, verifica-se que sobretudo nos casos do STAU, HAIN e BUCE, uma pro-

porção significativa dos isolamentos realizados é pontual, não traduzindo situações de colonização crónica.

Relativamente à idade de início da colonização pelos agentes bacterianos mais relevantes nestes doentes, estes dividem-se em dois grandes grupos: aqueles em que o primeiro isolamento e a evolução para a colonização crónica ocorrem maioritariamente antes dos 12 anos de idade (PSAE, STAU, HAIN e BUCE) e aqueles em que estes acontecimentos têm lugar mais tarde, sobretudo acima dos 18 anos (SARM e ALXY).

Não podemos, ainda, deixar de salientar a elevada taxa de co-colonização bacteriana nestes doentes. Com efeito, em 1999, a maioria dos doentes (55%) encontrava-se colonizada por dois ou mais agentes, sendo muito comum o isolamento simultâneo de PSE, STAU e HAIN ou de um ou dois destes e um dos outros agentes menos comuns (SARM, BUCE ou ALXY). Assim sendo, conclui-se que a infecção por um agente não condiciona a erradicação da colonização prévia por um outro. Esta colonização múltipla é particularmente preocupante, uma vez que o efeito deletério sobre a função pulmonar devido à infecção pelos diferentes agentes bacterianos é provavelmente sinérgico, como já se verificou em doentes infectados por PSAE e BUCE²².

Dos agentes menos representativos, apenas um comentário relativo à prevalência de colonização pela *S. maltophilia* (1-2%, com um pico isolado de 5% em 1998), inferior à referida por outros centros (3-10,3%)^{3,4,9,10,21,23,28}, o que poderá constituir uma das consequências de uma política antibiótica criteriosa e não indiscriminadamente agressiva. Além disso, a maioria destes isolamentos foram pontuais, só tendo existido um doente cronicamente colonizado pela *S. maltophilia* (padrão semelhante ao descrito por Demko et al)³⁵.

Dois comentários se oferecem em relação aos aspectos metodológicos deste estudo. Por um lado, a forma como foi calculada a prevalência

de colonização intermitente (sendo necessário apenas um isolamento no ano para que o doente fosse contabilizado como tal) poderá ter inflacionado as taxas encontradas, em comparação com estudos (a maioria) em que o cálculo é feito com base em todas as amostras de produtos respiratórios estudados. No entanto, a determinação simultânea da prevalência de colonização crónica permitiu, certamente, atenuar essa diferença e obter uma imagem bem explícita e definida do padrão de infecção/colonização bacteriana dos nossos doentes. O outro refere-se à inclusão de amostras de secreções brônquicas/orofaríngeas no estudo. No entanto, como é do conhecimento geral, nos grupos etários mais jovens estas constituem o único produto respiratório acessível em condições não invasivas e, como tal, o único passível de ser cultivado por rotina. Ora, é precisamente nas crianças abaixo dos 6 anos que parece conseguir-se encontrar uma maior sobreposição entre os resultados obtidos a partir de culturas de expectoração e de secreções orofaríngeas⁹, e a frequência de detecção de STAU e/ou PSAE por culturas de secreções respiratórias em crianças com menos de 2 anos está associada a um aumento significativo da morbilidade e mortalidade nos 10 anos seguintes³⁶. Assim sendo, no cômputo global, parece-nos que a utilização das secreções orofaríngeas/brônquicas como material adequado para a vigilância infecciosa das crianças com FQ não só é validada, como deve ser encorajada, uma vez que ao permitir a detecção precoce da infecção das vias respiratórias nos doentes mais jovens permite uma intervenção anti-infecciosa adequada e atempada, com a consequente possibilidade de um maior controlo da deterioração da função pulmonar³⁷.

CONCLUSÃO

Na sequência da avaliação dos resultados deste estudo retrospectivo sobre a prevalência e inci-

dência das infecções bacterianas do aparelho respiratório nos doentes com Fibrose Quística seguidos no nosso centro foram preconizadas algumas medidas.

Em primeiro lugar, são realizados actualmente exames bacteriológicos das secreções brônquicas com frequência, no mínimo trimestral, a fim de possibilitar a identificação precoce de bactérias infectantes.

Após um primeiro isolamento de STAU, realizamos sistematicamente terapêutica profiláctica com flucloxacilina durante os primeiros dois anos de vida.

Por seu turno, é realizada uma terapêutica anti-biótica agressiva das exacerbações pulmonares. O controlo da infecção crónica por PSAE passa, ainda, pela administração regular de antibiotico-terapia por via inalatória aos doentes colonizados.

No campo das medidas de controlo de infecção cruzada, é mantida uma evicção rigorosa dos contactos com doentes em que tenham sido isolados BUCE, PSAE multirresistente e SARM.

Por fim, procura-se identificar os doentes portadores de genótipos CFTR potencialmente condicionantes de um maior risco de aquisição de PSAE, com vista ao reforço das várias medidas destinadas a evitar e/ou erradicar a colonização crónica por este agente.

A realização de estudos deste tipo parece-nos, assim, ser fundamental para a delineação das medidas preventivas/terapêuticas mais adequadas a cada realidade epidemiológica, ao invés de adoptar linearmente as directivas preconizadas por outros centros, com características populacionais, ambientais e bacteriológicas provavelmente um pouco distintas.

BIBLIOGRAFIA

1. MICKLE JE, CUTTING GR. Clinical implications of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutations.

2. KOSOROK MR, WEI WH, FARRELL PM. The incidence of cystic fibrosis. *Stat Med* 1996; 15:449-462.
3. MORGAN WJ et al. Epidemiologic study of cystic fibrosis: design and implementation of a prospective, multicenter, observational study of patients with cystic fibrosis in the US and Canada. *Pediatr Pulmonol* 1999; 28: 231-241.
4. LENOIR G. *Pseudomonas aeruginosa* et mucoviscidose. *Rev Pneumol Clin* 1995;51:151-158.
5. KOSOROK MR et al. Acceleration of lung disease in children with cystic fibrosis after *Pseudomonas aeruginosa* acquisition. *Pediatr Pulmonol* 2001; 32: 277-287.
6. JOHANSEN HK, KOVESI TA, KOCH C, COREY M, HOIBY N, LEVISON H. *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* infection in cystic fibrosis patients treated in Toronto and Copenhagen. *Pediatr Pulmonol* 1998; 26: 89-96.
7. MUNOZ C. Microbiological study of the respiratory tract in children with cystic fibrosis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996;14:142-144.
8. FREDERIKSEN B, KOCH C, HOIBY N. Changing epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infection in Danish cystic fibrosis patients (1974-1995). *Pediatr Pulmonol* 1999;28:159-166.
9. MASTELLA G et al. Epidemiological survey of bacteria isolated from respiratory tract in european cystic fibrosis patients. Abstract book. XIII th International Cystic Fibrosis Congress. Stockholm 2000.
10. TACCETTI G, CAMPANA S. Microbiologic data overview of Italian cystic fibrosis patients. *Eur J Epidemiol* 1997;13:323-327.
11. FITZSIMMONS SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1993;122(1):1-9.
12. SCHAEDEL C, DE MONESTROL I, HJELTE L, JOHANNESSON M, KORNFALT R, LINDBLAD A et al. Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:483-491.
13. KUBESCH P, DORK T, WULBRAND U, KALIN N, NEUMANN T, WULF B et al. Genetic determinants of airways'colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Lancet* 1993;341: 189-193.
14. HUBERT D, BIENVENU T, DESMAZES-DUFEU N, FAJAC I, LACRONIQUE J, MATRAN R et al. Genotype-phenotype relationships in a cohort of adult cystic fibrosis patients. *Eur Respir J* 1996;9:2207-2214.
15. QUINTAS S, PEREIRA L, BANDEIRA T, BARRETO C. Genetic determinants of *Pseudomonas aeruginosa* colonization in cystic fibrosis patients. Abstract book. 24th European Cystic Fibrosis Conference. June 2001. Vienna, Austria.
16. KOSOROK M R et al. Comprehensive analysis of risk factors for acquisition of *Pseudomonas aeruginosa* in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1998;26:81-88.
17. GOPAL R et al. MRSA in cystic fibrosis. Meeting report. *J Hosp Infect* 1998;40:179-191.

18. ROMERO-VIVAS J, RUBIO M, FERNANDEZ C, PICAZO J. Mortality associated with nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Infect Dis 1995;21:1417-1423.
19. THOMAS SR, GYI KM, GAYA H, HODSON ME. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: impact at a national cystic fibrosis centre. J Hosp Infect 1998;40:203-209.
20. GIVNEY R, VICKERY A, HOLLIDAY A, PEGLER M, BENN R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a cystic fibrosis unit. J Hospital Infect 1997;35:27-36.
21. CUNHA MV, LEITÃO JH, Mahenthiralingam E, Vandamme P, Lito L, Barreto C et al. Molecular analysis of *Burkholderia cepacia* complex isolates from a portuguese cystic fibrosis center: a seven-year study. Manuscript a aguardar publicação.
22. JACQUES I, DERELLE J, WEBER M, VIDAILHET M. Pulmonary evolution of cystic fibrosis patients colonized by *Pseudomonas aeruginosa* and/or *Burkholderia cepacia*. Eur J Pediatr 1998;157:427-431.
23. BURNS JL et al. Microbiology of sputum from patients at cystic fibrosis centers in the united states. Clin Infect Dis 1998;27:158-163.
24. REVETS H. BURKHOLDERIA (*Pseudomonas*) *cepacia* and cystic fibrosis: the epidemiology in Belgium. Acta Clin Belg 1996;51:222-230.
25. LIPUMA JJ. *Burkholderia cepacia*. Mangement issues and new insights. Clin Chest Med 1998;19: 473-486.
26. LIPUMA JJ, Marks-Austin KA, Holsclaw DS et al. Inapparent transmission of *Pseudomonas (Burkholderia) cepacia* among patients with cystic fibrosis. Pediatr Inf Dis J 1994;13: 716.
27. BURDGE DR, NAKIELNA EM, NOBLE MA. Case-control and vector studies of nosocomial acquisition of *Pseudomonas cepacia* in adult patients with cystic fibrosis. Infect Control Hosp Epidemiol 1993;14:127-130.
28. PANKHURST CL, PHILPOTT-HOWARD J. The environmental risk factors associated with medical and dental equipment in the transmission of *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* in cystic fibrosis patients. J Hosp Infect 1996;32:249-255.
29. CLODE FE, KAUFMANN ME, MALNICK H, PITT TL. Distribution of genes encoding putative transmissibility factors among epidemic and nonepidemic strains of *Burkholderia cepacia* from cystic fibrosis patients in the United Kingdom. J Clin Microbiol 2000;38: 1763-1766.
30. LIPUMA JJ, SPIELKER T, GILL LH, CAMPBELL 3RD PW, LIU L, Mahenthiralingam E. Disproportionate distribution of *Burkholderia cepacia* complex species and transmissibility markers in cystic fibrosis. Am J Resp Crit Care Med 2001;164: 92-96.
31. MAHENTHIRALINGAM E, VANDAMME P, CAMPBELL ME, HENRY DA, GRAVELLE AM, WONG LT et al. Infection with *Burkholderia cepacia* complex genomovars in patients with cystic fibrosis: virulent transmissible strains of genomovar III can replace *Burkholderia multivorans*. Clin Infect Dis 2001;33: 1469-1475.
32. BEVIVINO A, DALMASTRI C, TABACCHIONI S, CHIARINI L, BELLI ML, PIANA S et al. *Burkholderia cepacia* complex bacteria from clinical and environmental sources in Italy: genomovar status and distribution of traits related to virulence and transmissibility. J Clin Microbiol 2002;40: 846-851.
33. PEREIRA C, PEREIRA L, BARRETO C. *Alcaligenes xylosoxidans* colonization in cystic fibrosis. In Abstract Book, XIIIth International Cystic Fibrosis Congress, June 2000, Stockholm, Sweden.
34. TAN K, CONWAY S P, BROWNLEE K G, ETHERINGTON C, PECKHAM D G. *Alcaligenes* infection in cystic fibrosis. Pediatr Pulmonol 2002; 34: 101-104.
35. DEMKO C A, STERN R C, DOERSHUK C F. *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: incidence and prevalence. Pediatr Pulmonol 1998;25: 304-308.
36. HUDSON VL, WIELINSKI CL, REGELMANN WE. Prognostic implications of initial oropharyngeal bacterial flora in patients with cystic fibrosis diagnosed before the age of two years. J Pediatr 1993;122: 854-860.
37. REGELMANN WE, ELLIOTT WJ, WARWICK WJ, CLAWSON CC. Reduction of spuntum *Pseudomonas aeruginosa* density by antibiotics improves lung function in cystic fibrosis more than do bronchodilators and chest physiotherapy alone. Am Rev Resp Dis 1990;141: 914-921.